

# ÉTUDES SUR L'HUILE D'AVOCAT, EN PARTICULIER SUR LA FRACTION STÉROLIQUE

## Suite de l'étude sur la fraction 4-monométhylstérolique

**T. ITOH, T. TAMURA, T. MATSUMOTO et P. DUPAIGNE\***

### ETUDE SUR L'HUILE D'AVOCAT EN PARTICULIER SUR LA FRACTION STÉROLIQUE

Suite de l'étude sur la fraction 4-monométhylstérolique

T. ITOH, T. TAMURA, T. MATSUMOTO et P. DUPAIGNE

*Fruits*, Jul.-aug. 1976, vol. 31, n°7-8, p. 473-481

**RESUME** - On a démontré dans ce travail la présence de 13 4- $\alpha$ -méthylstérols parmi les 4-monométhylstérols de l'huile d'avocat.

Le gramistérol et le citrostadiénol, les deux constituants les plus importants de la fraction en question ont été isolés et identifiés : de plus, les 31 norlanosténol, 4- $\alpha$ -méthylzymosténol, lophénol, 4- $\alpha$ -24-diméthylzynosténol, 24(28)-dihydroobtusifoliol, 24-méthyllophénol, 24-éthyllophénol, obtusifoliol et cycloeucalénol, ont été mis en évidence par une chromatographie gazeuse seule et combinée avec une spectrométrie de masse.

### INTRODUCTION

Dans la première partie de cet exposé sur la composition des stérols de l'insaponifiable de l'huile d'avocat (30), nous avons rappelé la composition des acides gras et énuméré un certain nombre de composants des cinq fractions principales de l'insaponifiable, mettant en évidence une vingtaine de corps différents parfois rencontrés dans d'autres produits organiques végétaux ou animaux, mais dont la présence dans l'avocat n'avait en général pas été prouvée. En ce qui concerne la fraction correspondant aux 4-monométhylstérols, nous avons identifié cinq composants, par chromatographie gazeuse : lophénol, obtusifoliol, 31 norcycloarténol, gramistérol (ou 24-méthylène-lophénol) et citrostadiénol (ou 24-éthylidène-lophénol); par contre, quelques pics entrevus restaient à identifier : la présente communication donne les résultats de l'étude plus complète des consti-

tuants stéroliques de cette fraction pour l'huile d'avocat.

### REMARQUE

Les numéros entre parenthèses renvoient aux travaux rapportés dans la liste bibliographique ; mais celle-ci contient, en outre, quelques articles non cités dans la bibliographie qui accompagnait notre première partie, ou très récents, se rapportant aux stérols et stéroïdes, afin de compléter la documentation des personnes qui s'intéressent à ces composants naturels, pas seulement dans le domaine de l'avocat, car les corps sont parfois les mêmes et montrent des propriétés voisines ou semblables. Tous ces articles ont été lus attentivement et se trouvent dans les bibliothèques usuelles.

\* - T. ITOH, T. TAMURA, T. MATSUMOTO - College of Science and Technology - Nihon University, 8 Kanda Surugadai, 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101.

P. DUPAIGNE - Institut de Recherches sur les Fruits et Agrumes 6, rue du Général Clergerie - 75116 PARIS.

### PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les substances de référence utilisées dans la présente

étude comme spécimens authentiques de 4-méthylstéroïls sont les suivantes :

- une fraction 4-monométhylstérolée contenant du 31-norlanostérol et du 4  $\alpha$ -méthylzymostérol extraite d'huile de graines de piment (2).

- une fraction contenant du 31-norcycloartérol extraite de l'huile de colza,

- du lophénol (25),
- de l'obtusifoliol (24),
- du cycloeucalénol (31),
- du gramistérol (61)
- du citrostadiénol (61)
- du 24(28) - dihydroobtusifoliol, du 24-méthyllophénol et du 24-éthyllophénol, préparés respectivement à partir des dérivés correspondants déshydrogénés partiellement en solution étherée avec catalyseur de platine.

Le tableau 1 donne les durées relatives de rétention (RRT), les indices  $\Delta R_{AC}$  (rapports entre la durée de rétention pour les acétates de stéroïls et celle des mêmes stéroïls libres) (26, 28) et les valeurs relatives  $\Delta R_{AC}$  (rapports entre les indices  $\Delta R_{AC}$  des stéroïls individuels et ceux d'un stérol standard) (28), pour ces spécimens authentiques, déterminés au moyen d'une colonne à 3 p. cent d'OV-17. L'acétylation et l'hydrolyse des stéroïls et des fractions stéroliques ont été obtenues selon la description donnée par un de nos travaux antérieurs (25).

L'argenture préparative des plaques destinées à la chromatographie en couche mince des 4-monométhylstéroïls a été

effectuée sur des plaques de verre de 20 x 20 cm imprégnées d'une couche de 0,5 mm de silicagel avec 10 p. cent de nitrate d'argent.

L'éluant a été le chlorure de méthylène et les plaques ont été développées en deux fois : après le développement suivi d'un contrôle visuel, les zones différentes utilisées dans le travail préparatif ont été récupérées comme nous l'avons décrit dans la première partie de cette recherche.

La chromatographie gazeuse des stéroïls a été menée ainsi que nous l'avons décrite (25, 30) en utilisant une colonne imprégnée à 3 p. cent d'OV-17 à 264°.

La durée relative de rétention (RRT) est exprimée par le rapport de la durée de rétention de la substance examinée à celle (40 mn) du sitostérol.

La chromatographie gazeuse combinée avec la spectrométrie de masse a été réalisée par un appareil Shimadzu LKB 9000 ; pour la chromatographie gazeuse, on utilisait une colonne de verre de 2 m de long sur 3 mm de diamètre intérieur garnie avec du liquide à 3 p. cent OV-17 imprégnant la poudre Gas-Chrom Z d'une finesse de 80-100 mesh.

Les conditions opératoires étaient les suivantes : colonne à 255°C, gaz vecteur 25 ml/mn d'hélium ; séparateur moléculaire à 280°C ; source ionisante à 310°C ; courant d'ionisation réglé à 70 eV ; courant du piège à 60 MA ; courant de haut voltage accéléré de 3 500 V. Le spectre infra-rouge (IR) et le point de fusion (m.p.) ont été mesurés ainsi que nous l'avons rapporté précédemment (30).

TABLEAU 1 - Durées relatives de rétention (RRT) indice  $\Delta R_{AC}$  et valeurs relatives de cet indice par rapport à des témoins authentiques de 4- $\alpha$ -méthylstéroïls sur une colonne de chromatographie gazeuse à 3 p. cent d'OV-17.

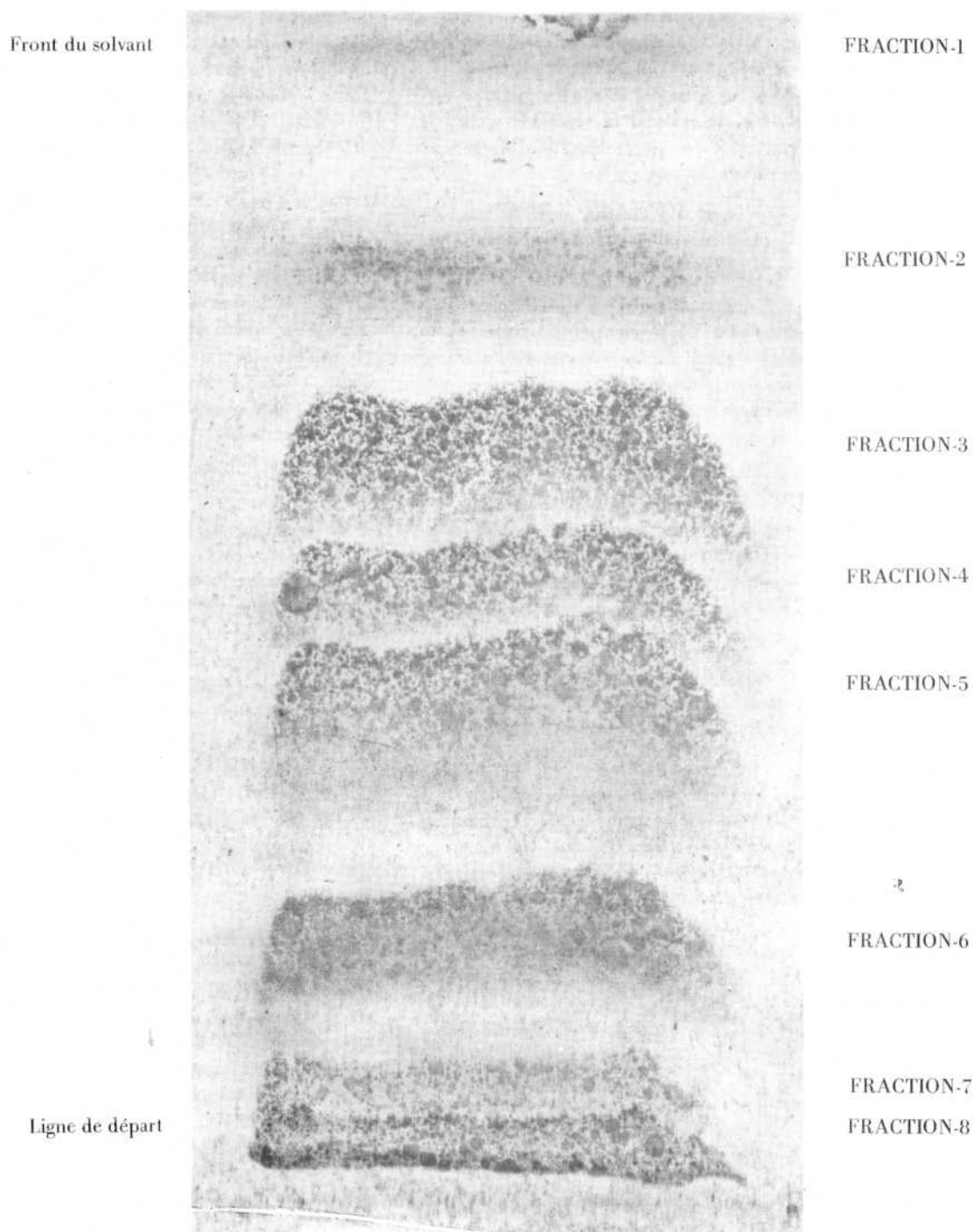
Composés	RRT (a)		Indice $\Delta R_{AC}$ (b)	Valeur relative $\Delta R_{AC}$ (c)
	3 $\beta$ -OH	3 $\beta$ -OAc		
31-norlanostérol	0,70	0,90	1,29	0,98
4 $\alpha$ -méthylzymostérol	0,70	0,90	1,29	0,98
lophénol	0,83	1,07	1,29	0,98
24 (28)-dihydroobtusifoliol	0,92	1,20	1,30	0,98
24-méthyllophénol	1,08	1,40	1,30	0,98
24-éthyllophénol	1,33	1,73	1,30	0,98
obtusifoliol	0,95	1,22	1,28	0,97
31-norcycloartérol	0,99	1,30	1,31	0,99
cycloeucalénol	1,10	1,44	1,31	0,99
gramistérol	1,12	1,45	1,29	0,98
citrostadiénol	1,49	1,92	1,29	0,98

(a) - RRT : la durée de rétention pour le sitostérol (40 mn) est arbitrairement fixée à 1,00

(b) indice  $\Delta R_{AC}$  : durée relative de rétention de l'acétate/durée relative de rétention pour le stérol libre

(c) valeur relative  $\Delta R_{AC}$  : indice  $\Delta R_{AC}$  du stérol/indice  $\Delta R_{AC}$  du sitostérol (1,32).

**Figure 1.** Chromatogramme en couche mince argentée de la fraction des 4-monométhylstérois acétylés de l'huile d'avocat. Les bandes diverses sont rendues visibles par pulvérisation d'acide sulfurique à 50 p. cent suivie d'un chauffage à 160°C pendant 30 mn. Les fractions 2, 3, 4 et 5 ont été chromatographiées en même temps que des échantillons authentiques de 24-méthyllophénol, citrostadiénol, obtusifoliol et (ou) cycloeucaenol et graminsterol respectivement.



## RESULTATS ET DISCUSSION

On a séparé 152 g de la fraction 4-monométhylstéroliques de l'huile d'avocat de la même manière que dans la première partie du travail (1).

La fraction acétylée des 4-monométhylstérois (162 g)

a été séparée en huit (fractions 1 à 8 de la figure 1), par chromatographie préparative sur plaques argentées ; on a pu récupérer sur la quantité totale pour ces diverses fractions, 1, 6, 44, 22, 28, 17, 6 et 12 mg respectivement. Les numéros 2, 3, 4 et 5 ont prouvé par comparaison avec des spécimens authentiques d'acétates de 24-méthyllophénol, citrostadiénol, obtusifoliol et (ou) cy-

cloeucalénol et gramistérol, qu'ils possédaient les mêmes  $R_F$  respectivement en chromatographie sur plaque argentée. Ces méthylstérols sont courants dans beaucoup de graisses végétales ; par exemple les quatre derniers étaient abondants dans des margarines végétales, alors que le beurre ne contenait que du cholestérol et du lanostérol, d'après un travail très récent (55).

Ces quatre fractions ont été ensuite purifiées par chromatographie sur plaque argentée pour donner finalement des poids de 4, 40, 17 et 21 mg.

Les fractions 1, 6, 7 et 8, ont fourni par chromatographie gazeuse, de petits pics : ils peuvent être considérés comme formés principalement par les acétates d'alcools aliphatiques avec des degrés divers d'insaturation, donc ils ont été exclus des expériences suivantes.

### Fraction 2.

La fraction 2 a donné en chromatographie gazeuse, 5 pics ayant des durées de rétention relative de 0,90 - 1,07 - 1,20 - 1,40 et 1,73 respectivement ; les alcools libres provenant de cette fraction acétate ont donné les 5 pics correspondants avec des durées de rétentions de 0,70 - 0,83 - 0,92 - 1,08 et 1,33.

Les composés correspondant à ces pics sont considérés comme ayant la structure de 4- $\alpha$ -méthylés-3- $\beta$ -ol en raison de leur indice  $\Delta R_{AC}$  (26,28) et leur valeur relative  $\Delta R_{AC}$  (28).

Le premier pic élué après chromatographie gazeuse (RRT 0,70) donnait une durée relative de rétention identique à celle des spécimens de référence 31-norlanostérol et 4- $\alpha$ -méthylzymostérol, d'ailleurs la chromatographie gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse a montré que ce pic RRT 0,70 est en réalité constitué par deux stérols. Le composé le plus important montrant un ion moléculaire ( $M^+$ ) à 414 m/e ( $C_{29}H_{50}O$ , intensité relative 19 p. cent) et d'autres ions à 399 m/e ( $M^+ - CH_3$  94 p. cent) 381 m/e ( $M^+ - CH_3 - H_2O$  15 p. cent) 245 m/e [ $M^+ - C_8H_{17}$  (chaîne latérale)  $C_3H_6$  (part du noyau D) -  $CH_2$  1 p. cent] et 227 m/e (245 m/e  $H_2O$  2 p. cent) peut être identifié au 31-norlanostérol, c'est-à-dire 4- $\alpha$ -14- $\alpha$ -diméthyl-5- $\alpha$ -cholest-8-en-38-ol, poids moléculaire 414 (figure 2, I).

Ce stérol a déjà été identifié dans le pollen de *Taraxacum* DENS LEONIS (pissenlit) (9) et aussi dans l'huile de graines de piment, d'après la première étude sur ce sujet publiée à Tokyo (32). Cette huile contient d'ailleurs 9 p. cent de cholestérol (5). Le 31-lanostérol se trouve évidemment en premier lieu dans la graisse de laine ou lanoline, qui renferme plus de 50 p. cent d'insaponifiables. Remarquons en outre qu'un alcool triterpénique, le 24-méthylélanostérol vient d'être découvert au Laboratoire de l'Université Nihon dans le beurre de karité (29).

Le second pic élué (RRT 0,83) ayant une durée relative de rétention égale à celle du spécimen de référence de lophénol a donné un ion  $M^+$  à 400 m/e ( $C_{28}H_{48}O$  100 p. cent) avec d'autres ions prédominants à 385 m/e ( $M^+ - CH_3$  3,2 p. cent) à 382 m/e ( $M^+ - H_2O$  8 p. cent) à 367 m/e ( $M^+ - CH_3 - H_2O$  13 p. cent) à 287 m/e [ $M^+ - C_8H_{17}$  (chaîne latérale) 19 p. cent] à 269 m/e (50 p. cent) à 245 m/e (29 p. cent) à 243 m/e (19 p. cent) et enfin à 227 m/e (31 p. cent). Tout ce schéma de fragmentation ionique est le même que pour le spécimen de référence du lophénol, donc ce stérol peut être certainement identifié au lophénol (4- $\alpha$ -méthyl-5- $\alpha$ -cholest-7-en-38-ol, poids moléculaire 400) (figure 2 III). Le lophénol qui a été d'abord découvert dans une cactée, *Lophocereus shottii* (grand Cérus à crête) est connu maintenant comme composant 4-méthylstérolique de peu d'importance dans diverses plantes supérieures : graines de thé, huile d'amande Cajou, huile de Chaulmoogra ... (14, 24, 25, 32).

Le troisième pic élué (RRT 0,92) et son correspondant acétate (RRT 1,20) présentent respectivement les mêmes valeurs de durée relative de rétention que ceux de l'échantillon de référence de 24-(28) dihydroobtusifoliol et son dérivé acétyle. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a prouvé que le troisième pic (RRT 0,92) est en réalité constitué par deux composants. Le plus important montrait une forte ionisation  $M^+$  à 414 m/e ( $C_{29}H_{50}O$  100 p. cent) ainsi que d'autres à 399 m/e ( $M^+ - CH_3$  29 p. cent) 396 m/e ( $M^+ - H_2O$  6 p. cent) 381 m/e ( $M^+ - CH_3 - H_2O$  10 p. cent) 287 m/e ( $M^+ - C_9H_{19}$  chaîne latérale 20 p. cent) 269 m/e ( $M^+ - C_9H_{19} - H_2O$  5 p. cent) 245 m/e ( $M^+ - C_9H_{19} - C_3H_6$  partie du noyau D 16 p. cent) et 227 m/e ( $M^+ - m/e$  245  $H_2O$  23 p. cent).

Puisque les 14-desméthylstérols ont la même durée relative de rétention que les stérols correspondants 14- $\alpha$ -méthylés avec notre colonne OV-17 (32), comme on l'a vu aussi dans le cas du 31-norlanostérol et du 4- $\alpha$ -méthylzymostérol déjà cités, on peut raisonnablement penser que le composant le plus important dont la durée relative de rétention est 0,92 peut être identifié au 14- $\alpha$ -desméthyl-24-(28)-dihydroobtusifoliol, c'est-à-dire le 4- $\alpha$ -24-diméthylzymostérol (24  $\Sigma$ ) 4- $\alpha$ -24-diméthyl-5- $\alpha$ -cholest-8-en-38-ol : poids moléculaire 414 (figure 2, IV).

Ce composant a été déjà identifié dans les baies du caféier (*Coffea arabica*) (44) et plus récemment dans des plantes parasites (56).

L'autre composant moins important (RRT 0,92) a donné une faible ionisation  $M^+$  à 428 m/e (30  $H_{52}O$ ) et à 413 m/e ( $M^+ - CH_3$ ) ; on peut sans doute l'identifier à du 24-(28) dihydroobtusifoliol (24  $\Sigma$ ) 4- $\alpha$ -14- $\alpha$ -24-triméthyl-5- $\alpha$ -cholest-8-en-3- $\beta$ -ol) poids moléculaire 428

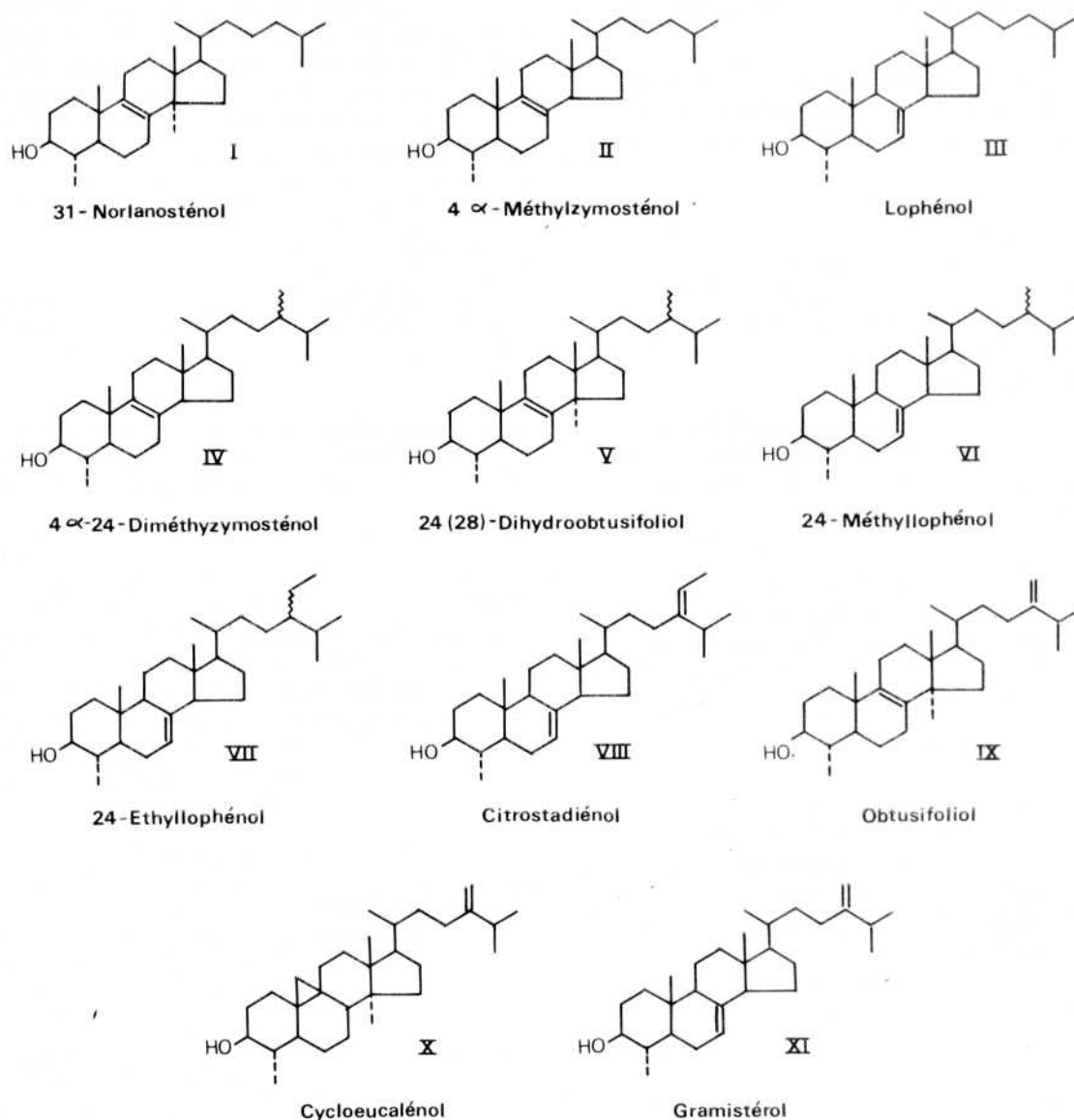


Figure 2 • STRUCTURES DES 4-METHYLSTEROLS IDENTIFIES AVEC CERTITUDE OU AVEC PROBABILITE DANS L'HUILE D'AVOCAT.

(figure 2 V). La présence de ce composé a été précédemment prouvée en utilisant la chromatographie gazeuse et combinée avec la spectrométrie de masse, dans les plantes parasites (13) et le sorgho (*Sorghum vulgare*) (11, 49).

Le quatrième composant élué le plus important (RRT 1,08) de la fraction 2 avait le même RRT que l'échantillon témoin de 24-méthyllophénol. La spectrométrie de masse a montré une forte ionisation  $M^+$  à 414 m/e (29H<sub>50</sub>O, 100 p. cent) et d'autres à 399 m/e (31 p. cent), 396 m/e (9 p. cent) 381 m/e (11 p. cent) 287 m/e (16

p. cent) 285 m/e (4 p. cent) 245 m/e (21 p. cent) 243 m/e (18 p. cent) et 227 m/e (28 p. cent).

Dans son ensemble le spectre était le même que celui du témoin de 24-méthyllophénol, dont on peut penser qu'il s'agit bien de ce corps 24 (28)-dihydrogramistérol, (24  $\Sigma$ ) 4- $\alpha$ -diméthyl-5- $\alpha$ -cholest-7-en-3 $\beta$ -ol, poids moléculaire 414 (figure 2, VI).

On a déjà rapporté sa présence dans la cire articulaire de la feuille de canne à sucre (48), dans la peau de pomelo (65), dans la baie de café (44), dans les plantes



parasites (56), dans le sorgho (49), dans la douce-amère (66).

Le café, outre du lanostérol, contient aussi un mélange de 6-méthylstérols qu'on a appelé coffeastérol ; en réalité la cerise de café contient les méthylstérols suivants :

- cycloeucalénol
- obtusifoliol
- citrostadiénol ou éthylidénolophénol
- gramistérol ou 24-méthylénolophénol
- 4- $\alpha$ -24- $\beta$ -diméthylcholestanol, voisin du 31-nordihydrolanostérol
- 4- $\alpha$ -méthylstigmastérol (47).

Beaucoup de ces corps se retrouvent, parfois à l'état de traces, dans bien des végétaux, dont l'huile d'avocat. Les deux premiers sont relativement abondants dans le tabac, les quatre premiers dans l'huile d'olive, la margarine végétale, l'écorce de pommelo (7, 8, 10, 55, 65).

Le dernier composant élué (RRT 1,33) a fourni un ion  $M^+$  à 428 m/e ( $C_{30}H_{52}O$ , 100 p. cent) et d'autres à 413 m/e (28 p. cent) 410 m/e (7 p. cent), 285 m/e (20 p. cent), 285 m/e (41 p. cent), 245 m/e (23 p. cent) 243 m/e (17 p. cent) et 227 m/e (27 p. cent) en spectrométrie de masse.

Les données de la spectrométrie de masse et de la chromatographie gazeuse concordent avec celles fournies par l'échantillon témoin de 24-éthyllophénol. C'est pourquoi en définitive le composant à RRT 1,33 est reconnu comme 24-éthyllophénol, c'est-à-dire 24(28)-dihydrocitra-stadiénol, (24  $\Sigma$ ) 4- $\alpha$ -méthyl-24-éthyl-5- $\alpha$ -cholest-7-en-3- $\beta$ -ol, poids moléculaire 428 (figure 2, VII). Ce stérol a été identifié déjà dans la peau de pommelo (65), la cerise de café (44), les plantes parasites (56) et le sorgho (11).

### Fraction 3.

La fraction 3 n'a donné qu'un pic principal (98 p. cent accompagné d'un plus petit (2 p. cent). Elle se présente en fines aiguilles dont le point de fusion est de 149 à 151°C et dont le spectre IR montrant une absorption à 816 ondes/cm prouve la présence d'une double liaison trisubstituée. En outre, la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse du stérol libre (RRT 1,49) a fourni une ionisation  $M^+$  à 426 m/e ( $C_{30}H_{50}$ ), 4 p. cent) et d'autres ions secondaires à 411 m/e (61 p. cent) 408 m/e (9 p. cent) 393 m/e (4 p. cent), 328 m/e (36 p. cent), 285 m/e (100 p. cent), 269 m/e (6 p. cent), 267 m/e (81 p. cent), 245 m/e (9 p. cent) et 227 m/e (14 p. cent).

Tous ces chiffres sont à peu près identiques à ceux que fournirait un spécimen authentique de Citrostadiénol, c'est pourquoi on peut raisonnablement penser qu'il s'agit vraiment de Citrostadiénol (24 $\Sigma$ ) 4- $\alpha$ -méthyl-24-éthylidène-5- $\alpha$ -cholest-7-en-3- $\beta$ -ol ; poids moléculaire 426 (figure 2 VIII) ; la grande similitude entre les produits de fragmentation de ce stérol par rapport à ceux du citrostadiénol laisse à penser que les deux corps ont une structure très voisine.

### Fraction 4.

La chromatographie gazeuse de la fraction 4 a montré deux pics ayant des durées relatives de rétention de 1,22 et 1,44.

Les stérols libres ont donné deux pics avec des RRT de 0,95 (66 p. cent) et 1,10 (34 p. cent) respectivement : le premier a donné en spectrométrie de masse un ion  $M^+$  à 426 m/l ( $C_{30}H_{50}O$ , 20 p. cent), avec d'autres ions à 411 m/l (90 p. cent), 393 m/l (28 p. cent), 327 m/l (14 p. cent), 309 m/l (6 p. cent), 283 m/l (5 p. cent), 281 m/l (23 p. cent), 245 m/l (29 p. cent) et 227 m/l (16 p. cent) avec un pic de base à 55 m/l. La chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse ont en somme fourni des renseignements analogues à ceux que donnait un échantillon témoin authentique d'obtusifoliol ; c'est pourquoi on peut identifier ce stérol comme obtusifoliol, 24 4 $\alpha$ -14 $\alpha$ -diméthyl-24-méthylène-5- $\alpha$ -cholest-8-en-3- $\beta$ -ol, de poids moléculaire 426 (figure 2, IX).

On pensait que le lanostérol était le triterpène intermédiaire dans la biosynthèse des stérols chez l'animal, et le cycloarténol l'intermédiaire chez les plantes supérieures ; or le laboratoire de l'Institut de Botanique de Strasbourg a montré qu'il n'y a pas de liaison directe entre la présence du cycloarténol et la synthèse des stérols par photosynthèse, car des plantes hétérotrophes parasites, l'orobanche et la cuscute, sont capables de synthétiser des 4- $\alpha$ -méthylstérols comme les cycloeucalénol, obtusifoliol, 24-méthylénolophénol et 24-éthylidénolophénol (56).

Le second stérol élué a montré un ion  $M^+$  à 426 m/l ( $C_{30}H_{50}O$ , 3 p. cent) avec d'autres ions principaux à 411 m/l (15 p. cent), 408 m/l (25 p. cent), 393 m/l (25 p. cent), 301 m/l (7 p. cent), 300 m/l (9 p. cent), 285 m/l (8 p. cent) et 283 m/l (8 p. cent) avec un pic de base à 55 m/l.

La durée relative de rétention et l'allure de la fragmentation ionique étaient les mêmes que celles de l'échantillon témoin authentique de cycloeucalénol ; donc ce deuxième stérol peut être assimilé à du cycloeucalénol, ou 4- $\alpha$ -14- $\alpha$ -diméthyl-24-méthylène-95-19-cyclo-5- $\alpha$ -cholestan-3- $\beta$ -ol, de poids moléculaire 426 (figure 2, X). Ce corps a été identifié par chromatographie gazeuse, spectre de résonance magnétique nucléaire, spectre de

masse et spectre IR dans l'huile de son de riz par JEONG et collaborateurs (31).

#### Fraction 5.

En chromatographie gazeuse, la fraction 5 comprenait un pic prédominant (RRT 1,45, 93 p. cent) précédé d'un plus petit (RRT 1,28, 7 p. cent) ; les stérols libres correspondants donnaient des durées relatives de 1,12 et 0,99 respectivement.

Le spectre infra-rouge de la fraction 5 (cristaux d'acétate à point de fusion 131-136°C, en feuillets) a montré des absorptions à 815 et 824 ondes/cm qui indiquent la présence de doubles liaisons trisubstituées, ainsi qu'à 3.080, 1.635 et 894 ondes/cm qu'on attribue au groupe méthylène terminal.

Par couplage entre chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse, le stérol libéré de cet acétate a donné une ionisation  $M^+$  à 412 m/l ( $C_{29}H_{48}O$ , 15 p. cent) ainsi que d'autres ions à 397 m/l (19 p. cent), 379 m/l (7 p. cent), 328 m/l (22 p. cent), 285 m/l (100 p. cent), 269 m/l (20 p. cent), 245 m/l (15 p. cent) et 227 m/l (20 p. cent). Toutes ces données : point de fusion de l'acétate, absorption en IR, voltages en spectrométrie de masse et durées de rétention en chromatographie gazeuse, sont à peu près identiques à celles que fournissait le gramistérol ; on peut donc identifier le stérol libre ayant une RRT de 1,12 à du gramistérol, ou 4- $\alpha$ -méthyl-24-méthylène-5- $\alpha$ -cholest-7-en-3  $\beta$ -ol, de poids moléculaire 412 (figure 2, XI).

D'un autre côté, le stérol libre du petit pic (RRT 1,28) nous a montré en chromatographie gazeuse couplée avec spectrométrie de masse une ionisation  $M^+$  à 412 m/l ( $C_{29}H_{48}$ ), 38 p. cent) ainsi qu'à 397 m/l ( $M^+ - CH_3$ , 16 p. cent) ; actuellement l'identification précise de ce pic reste en cours.

Ainsi que nous l'avons souligné dans la première partie de cette étude (1), la fraction 4-monométhylstérolique de l'huile d'avocat examinée est riche en  $\Delta^7$  stérols, c'est-à-dire, citrostadiénol (VIII) et gramistérol (XI) ; leur abondance est cependant accompagnée de la présence de l'obtusifoliol (IX), du cycloeucalénol (X) et de quelques autres constituants que l'on trouve d'ailleurs fréquemment dans les huiles des graines de toute une série de plantes supérieures (24, 32, 57, 61).

Dans le présent travail, nous avons donc identifié grâce à la chromatographie gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse 7 4- $\alpha$ -méthylstérols moins abondants, comportant une chaîne latérale saturée. Bien que ces sept corps n'aient été trouvés que partiellement et seulement dans certaines plantes, il est vraisemblable qu'ils existent un peu partout, à l'état de constituants secondaires, dans presque toutes les plantes supérieures.

De plus, dans notre première partie, un 4- $\alpha$ -méthylstérol ayant une durée relative de rétention de 0,99 a été considéré sur la foi de la seule chromatographie gazeuse comme du 31-noreycloarténol ; or, les résultats trouvés ici par une recherche précise ont montré que ces 4- $\alpha$ -méthylstérols ont été trouvés fréquemment dans les plantes supérieures (18), la possibilité n'est pas exclue qu'ils se trouvent aussi dans l'huile d'avocat, mais en quantité indécidable par les méthodes que nous avons utilisées ici.

La genèse de ces méthylstérols a été expliquée par divers chercheurs et des hypothèses parfois contradictoires ont été présentées ; leur intérêt dans la composition de l'huile d'avocat n'en reste pas purement théorique, car il est prouvé que cette huile possède des propriétés intéressantes, aussi bien en nutrition ou en diététique qu'en dermatologie, en raison de sa fraction insaponifiable.

#### BIBLIOGRAPHIE (Stérols Avocat II)

1. Anonyme.  
Analyse des stérols par chromatographie gazeuse.  
Norme française Corps Gras Animaux et Végétaux, NF T 60-232, AFNOR, décembre 1975.
2. Anonyme.  
Das Öl der Kaffeebohnen  
Kaffee und Tee Markt, sep. 1958, 8 (18), p. 26-28.
3. ALCAIDE (A.), DEVYS (M.), BOLTIN (J.), BARBIER (M.), LEDERER (L.).  
Sur la biosynthèse des stérols du tabac à partir du méthylène-24-cholestérol et du méthylène-24-dihydrolanostérol.  
Phytochem., oct. 1968, 7 (10), p. 1773-1777.
4. ALCAIDE (A.), DEVYS (M.), BARBIER (M.).  
Triterpenes and Sterols in coffee oil.  
Phytochem., jan. 1971, 10 (1), p. 109-210.
5. ATALLAH (A.M.) et NICHOLAS (H.J.).  
31-nordihydrolanosterol, a minor 40-methyl sterol in pollen of *Taraxacum* DENS LEONIS  
Steroids, dec. 1971, 17 (6), p. 11-618.
6. AWAD (O.).  
Steroidal estrogens of *Prunus armeniaca* SEEDS.  
Phytochem., mar. 1974, 13 (3), p. 678-679.
7. BENVENISTE (P.), HIRTH (L.) et OURISSON (G.).  
La biosynthèse des stérols dans les tissus de tabac. I - Isolement des stérols et des triterpènes.  
Phytochem., jan. 1966, 5 (1), p. 31-45.  
II - Biosynthèse des phytostérols dans les tissus de tabac.  
Phytochem., jan. 1966, 5 (1), p. 45-58.
8. BENVENISTE (P.).  
La biosynthèse des stérols dans les tissus de tabacs cycloeucalénol

- et obtusifoliol.  
*Phytochem.*, jan. 1968, 7 (6), p. 951-953.
9. BOAR (R.B.) et ROMER (C.R.).  
Cycloartane triperpenoids.  
*Phytochem.*, mai 1965, 14 (5), p. 1443-1446.
  10. BOSKOU (D.) et MORTON (L.D.).  
Changes in the sterol composition of olive oil on heating.  
*J. Sci. Food Agr.*, aug. 1975, 26 (8), p. 1149-1153.
  11. BOWDEN (B.N.) et PALMER (M.A.).  
Dihydroobtusifoliol from *Sorghum vulgare* CARYOPSES  
*Phytochemistry*, mai 1975, 14 (5), p. 1140-1141.
  12. CASTANG (J.), OLLE (M.), ESTIENNE (J.) et DERBESY (M.).  
Composition de la fraction stérolique de quelques huiles et graisses alimentaires.  
*Ann. Falsif. Exp. Chim.*, jan. 1976, 69 (737), p. 57-85.
  13. COX (J.S.), KING (F.E.) et KING (T.S.).  
The chemistry of extractives from hardwood - 26 - experiments on cycloeucalenol, a new terpene from *Eucalyptus microcorys*  
*J. Chem. Soc.*, jun. 1956, 3 (6), p. 1384-1392.
  14. DJERASSI (C.), KRAKOWER (G.W.), LEMIN (A.J.), LIU (L.H.), MILLS (J.S.) et VILLOTTI (R.).  
The neutral constituents of the *Cactus lophocereus* SHOTTL.  
The structure of lophenol - 4 $\alpha$  methyl-7-cholesten-3 $\beta$  ol. A link in sterol biogenesis.  
*J. Amer. Chem. Soc.*, dec. 1958, 80 (23), p. 6284-6292.
  15. EISNER (J.), IVERSON (J.L.) et MOZINGO (A.K.).  
Gas Chromatography of unsaponifiable water. 3. - Identification of hydrocarbon, alcohol, tocopherol, triterpenoids and sterol in olive oil.  
*J. AOAC*, feb. 1965, 48 (2), p. 417-433.
  16. EISNER (J.), IVERSON (J.L.) et FIRESTONE (O.).  
Gas Chromatography of unsaponifiable water. 4. Butter and vegetable oils.  
*J. AOAC*, oct. 1966, 49 (3), p. 580-590.
  17. FE (J.A.), BROWN (W.H.), WHITING (F.M.) and STULL (J.W.).  
Unsaponifiable water of crude and processed coconut oil.  
*J. Sci. Food Agr.*, 1975, 26, p. 523-531.
  18. FEDELI (E.) et MARIANI (C.).  
Complessità della frazione sterolica e triterpenica degli oli vegetali.  
*Riv. ital. Sost. grasse*, apr. 1971, 51 (4), p. 129-132.
  19. FINCKE (A.).  
Kakaobutter und Ersatzfette - Chemie und STULL  
*D. Lebensm. Rdsch.*, jan. 1976, 72 (1), p. 6-12.
  20. GOAD (L.J.) et GOODWIN (T.W.).  
The biosynthesis of plant sterols.  
*Eur. J. Biochem.*, apr. 1969, 7 (4), p. 502.
  21. GONZALEZ (A.G.) et BRETON (L.J.).  
Obtusifoliol, uno metilsterol in Euphorbia.  
*An. Real. Soc. Esp. Fis. Quim.*, 1959, 55 ser. B, p. 93.
  22. GRANT (W.L.).  
Influence of avocado on serum cholesterol.  
*Calif. Avoc. Soc. Yearbook* 1960, 44, p. 79-88.
  23. HARTMAN (L.), LAGO (R.), TANGO (J.) et TEIXEIRA (C.).  
O efeito da materia insaponificavel no comportamento do oleo de cafe.  
*Boletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 1968, 2, p. 61-71.
  24. ITOH (T.), TAMURA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Methylsterol compositions of 19 vegetable oils.  
*J. Amer. Oil Chemists Soc.*, Aug. 1973, 50 (8), p. 300-303.
  25. ITOH (T.), TAMURA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Sterols, methylsterols and triterpene alcohols in three theaceae and some other vegetable oils.  
*Lipids*, mar. 1974, 9 (3), p. 173-184.
  26. ITOH (T.), TAMURA (T.), IIDA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Gas chromatographic differentiation of 4-desmethyl, 4 mono-methyl.  
*Steroids*, mai 1974, 23 (5), p. 687-698.
  27. ITOH (T.), TAMURA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Sterols and methylsterols in some tropical and subtropical vegetable oils.  
*Oléagineux*, mai 1974, 29 (5), p. 253-258.
  28. ITOH (T.), TAMURA (T.), IIDA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Chromatographic differentiation of 4-desmethyl-4 mono-methyl and 4,4-dimethyl sterols. Part. II. - Differentiation of sterols based on Arac - values on four stationary phases.  
*Steroids*, jul. 1975, 26 (1), p. 93-106.
  29. ITOH (T.), TAMURA (T.) et MATSUMOTO (T.).  
24-methylenelanost - 9 (11), en 3 $\beta$ -ol, new triterpene alcohol from shea butter.  
*Lipids*, Aug. 1975, 10 (8), p. 454-460.
  30. ITOH (T.), TAMURA (T.), MATSUMOTO (T.) et DUPAIGNE (P.).  
Etudes sur l'huile d'avocat, en particulier sur la fraction stérolique de l'insaponifiable.  
*Fruits*, nov. 1975, 30 (11), p. 689-695.
  31. JEONG (T.M.), TAMURA (T.), ITOH (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Cycloeucalenol in rice-bran oil.  
*Yukagaku*, mar. 1973, 22 (3), p. 153-156.
  32. JEONG (T.M.), TAMURA (T.), ITOH (T.) et MATSUMOTO (T.).  
Analysis of methylsterol fractions from 20 vegetable oils.  
*Lipids*, oct. 1975, 10 (10), p. 634-640.
  33. KIRCHER (H.W.) et ROSENSTEIN (F.U.).  
Isolation of brassicasterol from steam deodorizer distillate of rapeseed oil : some properties of its acetate tetrabromide and its reduction to 22, 23-dihydrobrassicasterol.  
*Lipids*, apr. 1973, 8 (8), p. 453-458.
  34. KNAPP (F.F.) et NICHOLAS (H.J.).  
The sterols and triterpens of banana peel.  
*Phytochem.*, jan. 1969, 8 (1), p. 207-214.
  35. KNAPP (F.F.) et NICHOLAS (H.J.).  
The sterols and triterpene of banana pulp.  
*J. Food Sci.*, jun. 1969, 34 (6), p. 584-586.
  36. KNAPP (F.F.) et NICHOLAS (H.J.).  
The distribution of sterol and steryl esters in the banana plant.  
*Phytochem.*, oct. 1969, 8 (10), p. 2091-2093.
  37. MAIA (G.A.), BROWN (W.H.) et WHITING (F.M.).  
Cashew nut unsaponifiable matter  
*J. Food Sci.*, jan. 1976, 41 (1), p. 190-194.
  38. MANNITO (S.) et AMELOTTI (G.).  
Sterol composition of thirty vegetable oils determined by GLC using two of different polarity.  
*Riv. ital. Sost. Grasse*, mar. 1975, 53 (3), p. 79-83.
  39. MAZUR (Y.), WEIZMAN (A.) et SONDHEIMER (F.).  
Steroids and triterpenoids in Citrus fruit.  
III. The structure of citrostadienol.  
*J. Am. Chem. Soc.*, dec. 1958, 80 (23), p. 6293-6296.
  40. MAZUR (Y.) et SONDHEIMER (F.).  
Synthesis of 4-methylsterols - Interrelationship of cholesterol, citrostadienol and lophenol.  
*J. Am. Chem. Soc.*, dec. 1958, 80 (23), p. 6296-6299.
  41. MELCHERT (H.).  
Lipophile Chromatographie zur Isolierung von Sterinen aus dem Unverseifbaren von Fetten.  
*D. Lebensm. Rdsch.*, nov. 1975, 71 (11), p. 400-402.
  42. MERCER (E.I.) et JOHNSON (M.W.).  
Cyclisation of squalene 2,3 oxide to lanosterol in a cell-free system from *Phycomyces blakesleeana*.  
*Phytochem.*, dec. 1959, 8 (12), p. 2329-2331.
  43. MOSES (C.).  
Pharmacology of drugs used in the control of hypocholesterolemia.  
*Angiology*, jan. 1962, 13 (1), p. 59-68.
  44. NAGASAMPACI (B.A.), ROWE (J.W.), SIMPSON (R.) et GOAD (L.J.).  
Sterols of coffee.  
*Phytochemistry*, mai 1971, 10 (5), p. 1101-1107.



45. NAUDET (M.), RAKOTOVAO (M.) et CECCHI (G.).  
Sur la répartition des stérols au cours de la désodorisation des huiles végétales.  
*Rev. fr. Corps gras*, jan. 1973, 20 (1), p. 27-31.
46. NIEWIERDOURSKI (H.).  
The sterol hydrocarbons in edible oils.  
*Nahrung*, jul. 1975, 19 (7), p. 525-526.
47. OKA (Y.), KIRIYAMA (S.) et YOSHIDA (A.).  
Sterol composition of fruits, fungi, algae, tea, coffee and cocoa.  
*J. Jap. Soc. Food Nutrit.*, mai 1973, 26 (5), p. 317-327.
48. OSSKE (G.) et SCHREIBER (K.).  
24-méthylénophenol, ein neues Sterin aus *Saccharum officinarum* und *Solanum tuberosum*.  
*Tetrahedron*, jun. 1965, 21 (6), p. 1559-1566.
49. PALMER (M.A.) and BOWDEN (B.N.).  
The sterols and triterpenes of *Sorghum vulgare* grains.  
*Phytochemistry*, sep. 1975, 14 (9), p. 2049-2053.
50. PAQUOT (C.) et KALLEL (H.).  
Étude de l'insaponifiable de l'huile d'olive et mise en constituants nouveaux.  
*Rev. fr. Corps gras*, jun. 1973, 20 (6), p. 329-333.
51. PARODI (P.).  
Fate of dietary sterols in hydrogenated oils.  
*J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1975, 52 (9), p. 345-348.
52. PATTERSON (G.W.), KHALIL (M.W.) et IDLER (D.R.).  
Sterols in scallop application of sephadex to the resolution of a complex mixture of marine sterols.  
*J. Chromat.*, dec. 1975, 115 (11), p. 153-159.
53. PEYRON (L.).  
Chromatographie avec couplages modificateurs de structure.  
*Riv. ital. Ess. Prof.*, oct. 1975, 57 (10), p. 561-575.
54. PONSINET (G.) et OURISSON (G.).  
Aspects particuliers de la biosynthèse des triterpènes dans le latex d'*Euphorbe*.  
*Phytochem.*, mai 1968, 7 (5), p. 757-764.
55. PYLE (C.A.), HOLLAND (P.T.) et PAYNE (E.).  
Sterol composition of butters and margarines.  
*J. Sci. Food Agr.*, mar. 1976, 27 (3), p. 219-224.
56. ROHMER (M.), OURISSON (G.), BENVENISTE (P.) et BIMPSON (T.).  
Sterol biosynthesis in heterotrophic plant parasites.  
*Phytochem.*, mar. 1975, 14 (3), p. 727-730.
57. SAWICKI (J.) et MORDRET (F.).  
Les 4-méthylstérols, constituants de l'insaponifiable des huiles végétales.  
*Rev. fr. Corps gras*, nov. 1970, 17 (11), p. 685-688.
58. SCHILLER (H.).  
Massenspektren, voir Sterinderivate.  
*Fette Seifen Anstrich.*, D., mar. 1973, 75 (3), p. 143-150.
59. VAN TAMELEN (E.E.), WILLETT (J.D.) et CLAYTON (R.B.).  
Enzymic conversion of squalene oxide to lanosterol and cholesterol.  
*J. Am. Chem. Soc.*, 1966, 88 (20), p. 4752-4754.
60. VAN TAMELEN (E.E.), WILLETT (J.D.) et CLAYTON (R.B.).  
Lanosterol biosynthesis from squalene oxide.  
*J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89 (13), p. 3371-3373.
61. TAMURA (T.), ITOH (T.) and MATSUMOTO (T.).  
The structure of gramisterol.  
*Yukagaku*, mar. 1973, 22 (3), p. 157-163.
62. TISCORNIA (E.) et BERTINI (G.C.).  
Ulteriori indagini sulla composizione della frazione sterolica dell'*Olea europaea*, del *Carthamus inctorius* e dell'*Helianthus annuus*.  
*Riv. ital. Sostanze grasse*, fev. 1971, 50 (2), p. 51-61.
63. TISCORNIA (E.) et BERTINI (G.C.).  
Composizione della frazione sterolica nei lipidi estratti da semi oleosi.  
*Riv. ital. Sostanze grasse*, aug. 1973, 50 (8), p. 251-268.
64. TOUCHE (J.), DERBESY (M.), CAS (M.) et ESTIENNE (J.).  
Contribution à l'étude des stérols dans les corps gras.  
*Ann. Falsif. Exp. chim.*, fev. 1975, 68 (726), p. 99-112.
65. WILLIAMS (B.L.), GOAD (L.J.) et GOODWIN (T.W.).  
The sterols of grapefruit peel.  
*Phytochemistry*, Aug. 1967, 6 (8), p. 1137-1145.
66. WILLUHN (G.) et KOSTENS (J.).  
Sterine and sterinderivate in organen von *Solanum dulcamara*.  
*Phytochem.*, sep. 1975, 14 (9), p. 2055-2058.
67. YAMAMOTO (S.) et BLOCH (K.).  
Enzyme catalysing the transformation of squalene to lanosterol.  
*Biochem. J.*, jun. 1969, 113 (1), p. 19-20.



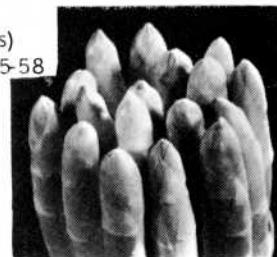
**DARBONNE**  
SOCIÉTÉ CIVILE DARBONNE

Tél. : 498.80.58 (8 lignes groupées)  
Télex 690373 F - C.C.P. Paris 5065-58

### UN INVESTISSEMENT RENTABLE

Les plants les plus forts, sains, productifs.  
Une gamme à votre service : précocité, rendement : DARBONNE N°4  
Hybrides doubles INRA : Diane, Junon, Minerve, Lara.  
Deux variétés vertes : Darbonne verte, Verte de Californie.

Exportons dans le monde entier.  
Expérience et documentation à votre disposition pour vous conseiller  
Demandez notre catalogue gratuit - Une visite en vaut la peine  
91490 MILLY-LA-FORET (Essone) - B.P. 8



**PLANTEZ DES  
ASPERGES**